

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Analisis Genotip dengan Bantuan Marka Molekuler

Hasil penelitian menunjukkan dari 150 sampel (5 galur dan 2 tetua) yang diuji secara molekuler dilakukan dua tahap seleksi yaitu *foreground* dan *background*. Seleksi *foreground* bertujuan untuk mengamati keberadaan QTL target pada padi hasil persilangan BC1F1 Situ Bagendit x Cabacu (SBC). *Foreground* menggunakan enam primer dari 3 QTL menunjukkan bahwa 7,3% individu dari total populasi yang memiliki ketiga QTL target. *Advanced Marker Assisted Backcrossing* (AdvMABc) metode ini meliputi dua tahap. Tahap pertama adalah seleksi hasil persilangan dengan marka yang terpaut erat dengan gen yang diinginkan yang dinamakan seleksi *foreground* (*foreground selection*) dan seleksi rekombinan (*recombinant selection*). Seleksi *foreground* ini menggunakan satu marka (atau beberapa) yang terpaut sangat erat (*tightly linked*) dengan sifat yang diinginkan (apabila sudah diketahui gen yang dimaksud dapat menggunakan marka untuk gen tersebut) (Friscth. 1999).

Tahap seleksi *foreground* menggunakan tiga macam QTL yaitu qRPF2.1, qGPP2.1 dan qSPP4.1. qRPF2.1 (*Root Pulling Force*) gen dari padi Cabacu yang berfungsi untuk meningkatkan daya tumbuh akar. qGPP2.1 (*Grain per Panicle*) adalah gen dari Cabacu yang mengatur jumlah gabah per malainya dan qSPP4.1 (*Spicelet per Panicle*) adalah gen yang mengekspresikan jumlah spikelet atau buliran permalainya.

Hasil dari seleksi *foreground* yang diinginkan adalah individu yang memiliki ketiga QTL yaitu qRPF2.1, qGPP2.1 dan qSPP4. Total individu dengan ketiga QTL adalah 11 nomor. Setelah meninjau hasil seleksi *foreground* dan daya tahan keseluruhan padi hasil persilangan di rumah kaca dipilih lima nomor dari total 140 sampel hasil persilangan Situ Bagendit x Cabacu diantaranya nomer SBC2.20, SBC4.22, SBC4.25, SBC4.27, SBC4.28. Kelima nomer dipilih berdasarkan evaluasi kepemilikan ketiga QTL dan hasil dari respon terhadap cekaman kekeringan yang diberikan di rumah kaca. Nomor sampel yang terpilih lalu di lanjutkan ketahap *background*.

Tabel 4. Hasil *scoring foreground* BC1F1 Situ Bagendit x Cabacu

No	QTL	SBC1	SBC2	SBC3	SBC4	SBC5
1	qRPF2.1	3	11	14	11	5
2	qGPP2.1	4	10	10	11	10
3	qSPP4.1	24	15	27	22	24
4	qRPF2.1+qGPP2.1	0	4	7	2	2
5	qRPF2.1+qSPP4.1	4	5	12	9	5
6	qGPP2.1+qSPP4.1	3	6	10	2	9
7	qRPF2.1+qGPP2.1+qSPP4.1	0	1	6	2	2
8	Total sampel	28	28	28	28	28

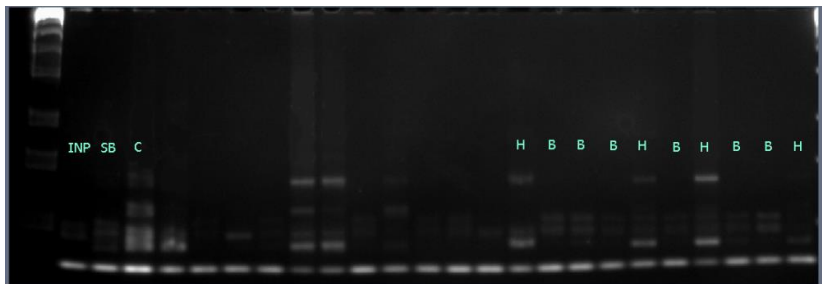
Tabel 5. Hasil *Genome Genotyping* Seleksi Background

Ind	No Galur	- (%)	A(%)	B(%)	H(%)	Total (cM)	Recom	H-Segment
1	SBC2.20	0.7	0.6	46.9	51.8	1692.5	51	24
2	SBC4.22	1.1	1.1	37.3	60.5	1692.5	46	21
3	SBC4.25	0.4	1.8	50.9	47	1692.5	49	22
4	SBC4.27	0	1.9	57.4	40.7	1692.5	45	21
5	SBC4.28	0	0	40.5	59.5	1692.5	53	27

Seleksi *background* bertujuan untuk melihat profil keseluruhan dari kromosom individu padi yang disilangkan, nantinya akan ditentukan sifat hasil persilangan lebih cenderung kepada tetua yang mana. Target dari *background* ini ialah padi yang paling mirip dengan Situ Bagendit.

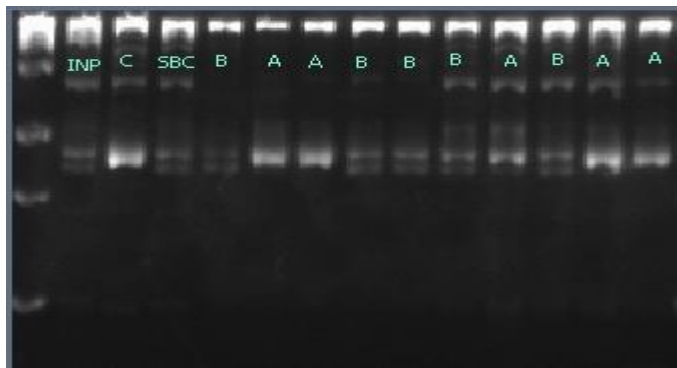
Jumlah kromosom padi diketahui berjumlah 12. Seleksi *background* dilakukan dengan menggunakan 131 primer yang mewakili semua seluruh kromosom padi. Kemudian dianalisis dengan bantuan aplikasi GGT (*Genome Genotyping*) dan didapatkan hasil seperti di Gambar 2, Gambar 3 serta Tabel 5.

Hasil dari persilangan BC1F1 Situ Bagendit x Cabacu dalam Tabel 5 dan Gambar 1 serta Gambar 2. Pola genotip tiap individu menggambarkan pola segregasi genom masing-masing. Terdapat tiga tipe alel yaitu tetua Donor (A), tetua Pemulih (B) dan Heterozigot atau terdapat kedua tetua baik pemulih dan donor (H). Tetua donor merupakan tetua dengan gen/sifat tertentu yang ingin disisipkan/dimasukkan ke dalam tetua pemulih sedangkan tetua pemulih merupakan tetua dengan gen/sifat yang ingin diturunkan secara keseluruhan (pemulih). Menurut Tasliyah pada tahun 2015 mengatakan bahwa hasil segregasi *background* BC1F1 idealnya memiliki 75% segregasi tetua pemulih atau heterozigot agar nantinya dipilih untuk di-*backcross* kembali pada musim selanjutnya. Pernyataan tersebut bersesuaian hanya dengan SBC4.25 dan SBC4.27 yang memiliki total segregasi B sebanyak 57,4% dan 50,9%. Hal ini menunjukkan bahwa penyilangan ini telah berhasil menghasilkan individu yang belum sesuai dengan yang diharapkan tetapi paling tidak dipilih padi dengan nilai paling tinggi. Hasil BC1F1 paling tidak 1-10% yang sesuai dengan yang diharapkan dan akan meningkat pada *backcross* selanjutnya.



Gambar 2. Contoh hasil amplifikasi primer RM13599 menggunakan gel poliakrilamid 8% dengan pewarnaan EtBr dan didokumentasikan dengan GelDoc. H adalah inidividu dengan hasil amplifikasi heterozigot dan B adalah inidividu dengan hasil amplifikasi sama dengan tetua pemulih (Cabacu) (Dokumentasi pribadi).

Tahap ini menggunakan marka sebanyak-banyaknya yang tersebar di seluruh kromosom. Tahap ini dinamakan seleksi *background* (*background* selection). Penggunaan seleksi *background* akan mempercepat pemulihan genom tetua pemulih. Individu yang menghasilkan marka homozigot dominan mengikuti tetua pemulih terbanyak yang akan dipilih untuk tahap persilangan berikutnya. Seleksi *background* memiliki dua tujuan, yaitu (1) mengurangi proporsi genom donor pada kromosom pembawa segmen gen donor dan (2) mengurangi genom donor pada kromosom lain (Friscth et al. 1999).



Gambar 3. Contoh hasil amplifikasi primer RM504 menggunakan gel poliakrilamid 8% dengan pewarnaan EtBr dan difoto dengan GelDoc. H adalah inidividu dengan hasil amplifikasi heterozigot dan B adalah inidividu dengan hasil amplifikasi sama dengan tetua pemulih (Cabacu) (dokumentasi pribadi).

4.2 Analisis Fenotip

Tanaman hasil persilangan BC1F1 Situ Bagendit x Cabacu di tanam di dalam rumah kaca selama kurang lebih 3 bulan hingga panen dengan 2 kali perlakuan cekaman kekeringan. Tanaman yang ditanam terdapat 5 galur persilangan dan 2 Tetua dimana T1 (tetua pemulih) adalah Situ Bagendit dan T2 (tetua donor) adalah Cabacu. Harapan dari persilangan ini adalah padi yang memiliki fenotip mirip dengan T1. Hasil *background* menunjukkan bahwa SBC4.25 dan SBC4.27

merupakan individu paling ideal untuk disilangkan kembali di musim selanjutnya secara genotip. Hasil konfirmasi secara fenotip ternyata juga menampilkan hasil demikian dimana tanaman yang diharapkan bersifat mirip dengan T1. SBC4.25 dan SBC4.27 memiliki fenotip yang mirip dengan T1 secara keseluruhan aspek.

Tabel 6. Data fenotip hasil persilangan dan tetuanya terhadap cekaman kekeringan

No	Galur	Tinggi Tanaman	Jumlah Anakan	Panjang Malai	Gabah isi
1	T1 (SB)	41.6b	7.3b	2.7c	6.6a
2	T2 (C)	18a	2a	2.5c	34b
3	SBC2.20	56.1b-c	5.4a-b	14.6a-b	20.6b
4	SBC4.22	49.9b	4.1a-b	10.2a	3.3a
5	SBC4.25	74c	5.6b	18.2b-c	6.8a
6	SBC4.27	73.2c	6.4b	19.4b-c	7a
7	SBC4.28	53.9b-c	5.5b	17.2b-c	2.8a